

## 実験的ハムスター舌癌形成過程の超微形態学的研究

### I. 正常舌粘膜上皮の超微構造：特に角化について

小田島哲世 賀 来 亨

札幌医科大学病理学第2講座 (主任：小野江為則教授)

## Ultrastructural Study on Experimental Lingual Carcinogenesis in the Hamster

### I. Ultrastructural Study of Normal Tongue Epithelium with Special Reference to the Process of Keratinization

Tetsuyo ODAJIMA and Tohru KAKU

*Department of Pathology (Section 2), Sapporo Medical College  
(Chief: Prof. T. Onoé)*

The main purpose of the present series of studies is to investigate disorders of keratinization in experimental chemical lingual carcinogenesis in hamster. To our knowledge, no detailed ultrastructural study of the tongue epithelium in normal hamster is available. Thus as preliminary work attention was focused on the detailed description of the ultrastructure of the epithelium from the lateral surface of normal hamster tongue with special reference to the process of keratinization.

The lateral epithelium in normal hamster tongue was composed of the epithelial parts which constituted the filiform papillae and the interpapillary epithelial part which occupied a greater portion of the lateral epithelium. The former was separated into the epithelial parts of the anterior and posterior sides of the papillae. The ultrastructural findings, especially keratohyalin granules showed considerable changes among these epithelial parts as well as under some fixation methods. These findings observed in the tongue lateral epithelium in hamster were weighed against ultrastructures in other keratinizing epithelia excepting the tongue epithelium.

(Received September 22, 1977 and accepted December 12, 1977)

### I. 緒 言

口腔粘膜上皮は表皮と比較して厚く、層構造も明瞭であり、重層扁平上皮の発癌過程を形態学的に検索する上で都合の良い組織である。舌癌は臨床的にも重要であるが、われわれはさきに、ハムスターによる舌癌のモデル実験に成功し、その形成過程を光顕的に検索し、逐次報告してきた<sup>1,2)</sup>。

今日までに重層扁平上皮の発癌過程を電顕的に観察した報告は多いが、大部分は表皮についてのもので<sup>3)</sup>、口腔粘膜に関するものは少ない<sup>4)</sup>。その内容についても、核、細胞内小器官の変化、それに上皮結合組織境界の態度などについて検索したにとどまり、病的角化については深く追求されていない。また今回の実験の対象となった舌粘膜は、皮膚および他の口腔粘膜と比較し、部位によって角化形態

に差異がみられ変化に富んだ組織である。舌癌形成過程を電顕的に観察し、病的角化に関する超微形態の変化を検索する第一段階として、今回は正常ハムスター舌粘膜の角化形態に関する部位的差異について詳細に検索し、表皮および他の口腔粘膜の角化形態と比較検討した。

### II. 実験材料および方法

実験動物は生後約3カ月の正常雄ハムスター5匹で、舌側縁中1/3部粘膜を切除し、それぞれ光顕、電顕用の実験材料とした。細切された電顕用組織をcacodylate bufferでpH 7.4に調整した4°Cの2.5% glutaraldehyde, 2% paraformaldehyde 混合液で2時間固定し、次いで同じ緩衝液でpH 7.4に調整した4°Cの1% osmium tetroxideで90分間、後固定を行った。また、重層扁平上皮の重要なマーカーであるkeratohyalin granule (KG) は、固定

条件によって内部構造に差異が生ずるといわれるので<sup>5)</sup>、一部は glutaraldehyde による固定のみとした。通法に従い切片作製後、光顕用に H・E、電顕用に酢酸ウラニル、クエン酸鉛の二重染色を施し観察した。

### III. 観察結果

舌側縁部は舌背部と同様、糸状乳頭は認められるが、その発達は悪い。乳頭の長軸は咽頭方向に傾倒し、なだらかな曲線を描いている (Fig. 1)。舌側縁部の上皮の分類は、雪野<sup>6)</sup>、阪尾<sup>7)</sup> によるラット舌背部のそれに準じ、乳頭間上皮細胞列、乳頭前面部上皮細胞列、そして乳頭後面部上皮細胞列、また上皮の層構造についても基底層、中間層 (深部、浅部)、表層 (角質層) に分け比較観察した。

#### 1. 光学顕微鏡の見所

(1) 乳頭間上皮細胞列：舌側縁部の大部分を占め、基底細胞は円柱形ないし立方形、基底膜に対しほぼ垂直に位置する。細胞質は塩基性、核は楕円形、クロマチンに富む。深部中間層は有棘層に相当し、細胞は多角形、細胞間に細胞間橋が認められる。浅部中間層は顆粒層に相当し、細胞、核は立方形から扁平になる。細胞質には好塩基性、円形ないし楕円形の KG が出現する。角質層は好酸性に染まる扁平構造の重積として観察され、細胞境界は不明瞭である。

(2) 乳頭前面部上皮細胞列：基底細胞はやや小さく、円柱形ないし立方形だが、表層に近づくにつれ、細胞長軸を傾斜させた紡錘形となり、さらに扁平化する。浅部中間層の KG は好酸性で、角質層に近づくにつれ、その数と大きさを増す。

(3) 乳頭後面部上皮細胞列：多くの点で乳頭前面部細胞に似ているが、表層に近づくにつれ、より扁平化する。中間層細胞に KG が認められないのが特徴である。

#### 2. 電子顕微鏡の見所

(1) 乳頭間上皮細胞列：1) 基底層：基底細胞は低円柱形ないし立方形で、上皮・結合組織境界に垂直に位置し、核はときに切れ込みを有することがあるが、多くは卵円形で、核小体も良く発達している。細胞質内には tonofilament (Tf) がほぼ細胞の長軸に沿って走り、ときに集束する。細胞内小器官では、糸状体は良く発達するが、粗面小胞体、Golgi 装置、lysosome の発達は概して悪い。リボゾームは細胞質内に polysome として多数認められる。狭い細胞間隙に突起を出し、desmosome を介して細胞が接着している部分もある (Fig. 3)。基底面では多数の細胞質突起を出し、低電子密度の lamina lucida、さらに高電子密度の lamina densa、そして zona diffusa を介して結合組織に接している。half desmosome もしばしばみられ、その直下の lamina densa は肥厚して電子密度は高い。と

きに lamina densa の多層化を見ることもある。half desmosome 直下の lamina lucida には微細な anchoring filament が走行している。zona diffusa には特徴のある不規則な横紋周期を有する anchoring fibril が存在し、その一端を lamina densa に付着させ、種々の方向に走行しながら互いに融合して網状を呈する。この傾向は half desmosome 直下で特に著しい (Fig. 2)。膠原線維は単一の線維として存在し、anchoring fibril と関係したり、集束することもない (Fig. 3)。

2) 深部中間層：基底細胞よりも大きく、多角形で、上層に近づくにつれ次第に扁平となる。核も同様に卵円形、球形、さらに扁平化し、核質の微細顆粒は均一に分布して比較的明るい (Fig. 4)。細胞間隙には多数の細胞質突起を出して interdigitation 構造をとり、比較的大きな desmosome を多数形成する (Fig. 4)。

Tf は集束して太い大きな tonofibril (Tfibril) を形成し、種々の方向に走行する (Fig. 4)。その一部は desmosome の付着板に付着し、desmosome-tonofibril complex をなしている (Fig. 5)。糸状体は核周囲に多くみられるが、粗面小胞体の発達は悪い。遊離リボゾームは依然として豊富に存在する (Fig. 4)。この層の中、上層に至ると、Golgi 装置の近くに 100~300 nm の大きさで、限界膜を有する球形ないし卵円形の keratinosome が出現する (Fig. 7)。多くの場合、内部に暗調部と明調部とが交互にならんだ層板構造をとるが、無構造で明調あるいは暗調にみえる場合もある (Fig. 6)。この顆粒は上層に近づくにつれ、細胞周辺に見出されるようになる (Fig. 8)。

3) 浅部中間層：この層になると細胞はさらに扁平化し、細胞間隙の狭小化に伴って、細胞質突起を欠き desmosome も減少する。遊離リボゾーム以外の細胞小器官は減少するが、Tfibril は減少することはない (Fig. 9)。keratinosome の多くは細胞の遠位 (外側) 細胞膜付近にみられ (Fig. 9)、細胞間隙中にも見出される場合もある (Figs. 13, 14)。この層に出現する KG は Tf と無関係、大小種々の球形、高電子密度の顆粒で、限界膜に包まれることはなく、周囲には多数のリボゾームが付着している (Fig. 9)。核内にも KG 様の小球形顆粒が認められる (Figs. 9, 10)。glutaraldehyde のみの固定では、大きな KG は透けてみえる明調部と電子密度を有する暗調部とから成り、篩状構造をしている (Fig. 11)。また核内小顆粒も KG の明調部と同様、透けてみえる (Fig. 11)。

4) 角質層：角質層細胞 (角質細胞) は全体に高電子密度の扁平な細胞で、中間層に比較し細胞間隙は拡大する (Figs. 13, 15)。desmosome は痕跡的に認められるにすぎない (Fig. 15)。核、細胞小器官もすべて消失し、わずかに

高電子密度の小さな KG 様顆粒が認められるにすぎない (Fig. 13). Tf よりもやや太い keratin filament が互いに吻合して縦横に走行し、その間には線維間物質が緊密に充填している (Fig. 15). ときに線維間物質の電子密度が filament よりも高くなり、いわゆる keratin pattern を呈することもある. この層になると細胞膜は急激に肥厚し (Figs. 13, 14), 細胞膜の内葉に沿って高電子密度の暗調帯を形成する (Fig. 15). glutaraldehyde のみの固定で、細胞膜肥厚帯は完全に消失し、線維間物質の電子密度は低下し相対的に keratin filament の電子密度が高くなっている (Fig. 16).

(2) 乳頭前面部上皮細胞列: 1) 基底層; 細胞は上皮結合組織境界に対しほぼ垂直に位置し、乳頭間上皮に比較し円柱形でやや小さく、不整形を示す. 遊離リボゾームは極めて豊富で、細胞は全体に暗調を呈する (Fig. 17). 基底面の half desmosome は大きく幅広い. zona diffusa, 膠原線維も良く発達している (Fig. 18).

2) 深部中間層; 細胞は紡錘形あるいは扁平となり、この傾向は表層に近づくにつれ顕著となる. 細胞膜は極めて複雑に交錯し、desmosome も増加する (Fig. 19). Tfib はその幅と電子密度を増し、遊離リボゾーム, keratinosome も豊富である.

3) 浅部中間層; 遊離リボゾーム, Tfib の減少はないが、keratinosome 以外の細胞小器官はほとんど認められない. keratinosome の発達、分布は乳頭間細胞と同様である (Fig. 20). KG は最初、Tfib 上に高電子密度の物質が浸潤、沈着し (Fig. 20), 次第に大きさを増し、周囲にリボゾームを付着させた粗大な不整形顆粒となる (Figs. 21, 22). 上層に近づくにつれ、粗大な KG 同士が融合し、長円形の巨大な不整形顆粒を形成する (Fig. 23). 乳頭間部にみられるような核内の高電子密度の小顆粒は認められない. glutaraldehyde のみの固定では、辺縁部に突出する部分の電子密度は Tfib と同程度に減少するが、中央の部分は無構造、高電子密度を示す (Fig. 23).

4) 角質層; 角質層細胞は極めて高い電子密度を有する扁平な細胞の重積として認められ、KG の存在と明瞭な keratin pattern が認められる以外、すべての細胞小器官は消失している (Fig. 22). KG は中間層のそれと同様、粗大長円形の顆粒だが、上層に近づくにつれ次第にその大きさと電子密度を減じ、また内部構造は明暗を示す細顆粒状を示すようになる (Fig. 22). 表層では KG は完全に消失し、細胞は keratin filament, 線維間物質のみからなる. 細胞膜の高電子密度の肥厚帯は中間層に比較し一層明らかである (Fig. 22). glutaraldehyde のみの固定では、細胞膜肥厚帯の電子密度は消失し、KG 内部の明暗構造は一

層明らかなになる (Figs. 22, 24). KG の明調部の中には filament が包埋され、KG 周辺部の暗調部は線維間物質に移行している (Fig. 24).

(3) 乳頭後面部上皮細胞列: 1) 基底層; 他の細胞列と比較し基底細胞は最も小さく、高円柱形で、遊離リボゾームは最も豊富である. Tfib は細胞長軸方向に細長く走行し、他の細胞小器官の発達、上皮・結合組織境界は基本的に乳頭前面部のそれと同様である.

2) 中間層; この層になると細胞長軸を乳頭前面部のそれと対称性に傾斜させ、一層扁平構造をとる. 遊離リボゾームは減少することなく、豊富に存在する. 細胞膜の interdigitiation, desmosome の発達は乳頭前面部と同様である. keratinosome の発達は悪く (Fig. 26), 前二者ほど豊富に細胞間隙には認められない (Fig. 27). Tfib は著しく増加し、太さと長さ、それに電子密度をも増し、そのため個々の線維を識別できない (Fig. 27). この傾向は上層に近づくにつれ顕著となり、角質層細胞との移行部では多くの Tfib と相互に枝を出して連絡、融合し、全体として極めて太い束を形成し、細胞の大部分を占める (Figs. 27, 30). そのため細胞は一層電子密度を増す. KG の発達は極端に悪く、まったく存在しないか、あっても Tfib 上の極く一部に電子密度をやや高めた部分として認められるにすぎない (Fig. 27).

3) 角質層; 角質層細胞はかなり長い扁平な細胞で、大量の filament と極めて高電子密度の線維間物質が緊密に充填しているため keratin pattern は認め難い (Figs. 27, 28). keratin filament は Tfib と極めて良く似ており、中間層・角質層境界で Tfib を充填した細胞がそのまま角質層細胞へ移行している (Figs. 27, 28, 30). 細胞間隙は離開することはなく、痕跡的ではあるが、細長い細胞間接触層を有する desmosome で緊密に接着されている (Figs. 28, 29). glutaraldehyde のみの固定でも、細胞質の電子密度はさほど低下せず、Tfib 個々の線維を識別することはできない (Figs. 29, 30).

#### IV. 総括ならびに考案

角化重層扁平上皮を構築する各層の細胞は、基底細胞の分裂により、深部中間層 (有棘層) 細胞を生じ、さらに成熟分化して浅部中間層 (顆粒層) 細胞、そして角質層細胞へと移行する一連の過程、すなわち、角化過程の一時期を示すわけで、超微形態的にその変化を観察できる. それらは上皮・結合組織境界、Tf および Tfib, keratinosome, KG, 細胞膜肥厚、角質の keratin filament と線維間物質などの変化に見いだされ、これらに相呼応して核、リボゾームその他の細胞小器官の変化が加わってくる.

ここでハムスター舌側縁上皮を主体に、他の重層扁平上皮と比較しながら、角化に関する超微形態について最近の知見をまじえ総括したい。

### 1) 上皮・結合組織境界について

基底膜は上皮・結合組織間に介在し、両者の接着に重要な働きをする構造物で、超微形態的には前述したように、3層に区別される。一般に超微形態上の基底膜は lamina densa を指しており、光顕の基底膜とは一致しない。光顕の基底膜は PAS 陽性、好銀性の厚い層を形成するが、lamina densa はそれよりはるかに薄い。超微構造的に銀の沈着が zona diffusa、特に anchoring fibril に特異的に認められ<sup>8)</sup>、また ruthenium red 強陽性の物質が lamina densa に存在するところから<sup>9)</sup>、光顕の基底膜は lamina densa および zona diffusa に相当するものと思われる。この lamina densa は、上皮が分泌する基底膜物質で作られているものと考えられている<sup>9)</sup>。

half desmosome の存在する部分の lamina densa は desmosome の細胞間接触層に相当するが、まったく同じものかどうかは不明である。この lamina densa には anchoring filament が貫通しており、細胞膜外葉と lamina densa を物理的に結びつけているものと思われる。anchoring fibril は重層扁平上皮に特徴的にみられ、コラーゲン線維とは異なる不規則な横紋周期を有する特殊な細線維である。その一端が lamina densa に付着しているところから、上皮性由来が想定されるが、Briggaman らは種々の実験の結果、結合組織由来と結論している<sup>10)</sup>。その機能は基底膜前駆物質の層状化をもたらしことによって lamina densa の形成に参加し、同時にその細線維状構造によって上皮細胞と結合組織との物質交換に適した環境を提供しているものと考えられている<sup>9)</sup>。

ところで乳頭間上皮に lamina densa の多層化がしばしば認められる。これは lamina densa が構造的に安定なため、基底細胞が migration したあとでもある期間残存し、一方、既存の基底細胞にとって代ってその位置を占める基底細胞が新たに lamina densa を構築する結果、新旧の lamina densa が共存したものと考えられている<sup>11)</sup>。乳頭構成上皮、特に乳頭後面部においては lamina densa の多層化はほとんど認められない。このことは基底細胞の migration の頻度、ひいては cell renewal に関係し、乳頭間上皮は乳頭構成上皮よりも高い cell renewal を示すことを示唆している。

half desmosome の大きさ、zona diffusa の発達程度についても若干の差異がある。乳頭間上皮の zona diffusa は比較的良く発達しており、この部において基底膜形成と物質交換が活発に行なわれている可能性を示唆している。

乳頭構成上皮の half desmosome は幅広く、大きい、これは糸状乳頭に加わる外力に対して上皮・結合組織を強力に接着させるためと思われる。

上皮・結合組織境界のはたす第一の役割については前述した通りで、第二には、lamina densa が不安定な細胞膜を安定化させ、細胞膜の bleb 形成を抑制するはたらきをしている<sup>12)</sup>。第三には、種々の物質および細胞が lamina densa を通過するさいの barrier としてはたらいっているであろう。炎症細胞、腫瘍細胞が lamina densa を貫通することは良く知られているが、これらの細胞は蛋白分解酵素のような特殊な物質を分泌して lamina densa を破壊すると考えられ、barrier 破壊能力を有する細胞のみが lamina densa を通過することができるのかも知れない。

### 2) Keratinosome について

keratinosome なる名称は Wilgram によって与えられたものであるが<sup>13)</sup>、最近、角化との関係で注目されている特殊な細胞小器官である。この顆粒について Selby が small dense granule として初めて報告して以来<sup>14)</sup>、形態と機能上の特徴から、Odland body<sup>15)</sup>、corpusculum<sup>15)</sup>、lamellar granule<sup>17)</sup>、cementsome<sup>18)</sup>、membrane coating granule<sup>19)</sup> などと呼ばれている。

形態学的には限界膜を有する円形の顆粒で、内部は明調帯と暗調帯からなる層板構造をとるが、ときにまったくこのような内部構造が認められないことがあり、切れ方によっても差異が生ずる。最初、深部中間層上層の細胞に出現し、しかも Golgi 装置の近くに見いだされることが多く、Golgi 装置由来の分泌顆粒と考えられている。Bonnevillie らは Golgi 装置の coated vesicle の内部に層板構造を生じ、次いでその被覆を失って keratinosome になると説明している<sup>20)</sup>。

keratinosome は最終的に細胞間隙に放出され、角化および重層扁平上皮の機能に関与している可能性が強い。その機能については細胞間のセメント物質としてはたらくとする説と、角質層細胞の剥離に関係するとする説に大別される。前者によると、顆粒に含まれる多糖類<sup>18,21)</sup>、リン脂質<sup>18)</sup>、糖蛋白<sup>22)</sup> などから成るセメント物質が細胞間の接着剤<sup>18)</sup> としてはたらくと同時に、一方では細胞膜外葉を被覆することにより細胞膜肥厚に参加し<sup>19)</sup>、外界からの物理化学的刺激に対する barrier を形成しているという<sup>21)</sup>。次に角質層細胞の剥離に関係するという説の根拠になったのは、この顆粒に lysosome 酵素である acid phosphatase の存在が証明されたことで<sup>23)</sup>、角質層細胞剥離はその加水分解作用によるという。その後、他の lysosome 酵素<sup>24)</sup>、それに thiamine pyrophosphatase<sup>25)</sup> なども証明され、Golgi-lysosome 系に由来する一種の lysosome とする考



えも強い<sup>23)</sup>。

いずれにしてもこの顆粒が重層扁平上皮の生物学的機能に関係することは確実で、その発達程度が問題となる。この顆粒の発達程度は角化形態と密接に関係するようで、KGのみられない乳頭後面部ではさほどの発達はなく、しかも小さく、内部の層板構造も認められない。一般に keratinosome は psoriatic skin のような turnover の促進した疾患では増加し、逆に turnover の低下した疾患では減少するという<sup>13)</sup>。乳頭後面部は乳頭間部、乳頭前面部に比較し、keratinosome の発達は悪く、また細胞間隙にもさほどみられず、turnover が低下している可能性が高い。事実、Cameron はマウスの乳頭後面部の turnover が乳頭前面部のそれより低下することを報告している<sup>26)</sup>。

### 3) Desmosome について

desmosome は重層扁平上皮の細胞間結合装置として非常に重要な構造物で、細胞の成熟分化の程度によって種々の形態をとり、角質層上部でも痕跡的ではあるが、依然として存在し、比較的安定な装置といえる。desmosome の細胞間接触層は、細胞間に介在し、細胞同士を直接結合させる構造物で、細胞表面の物質と同じ糖蛋白からなるとされ、desmosome のセメント物質としてはたらいっている。keratinosome はこの細胞間接触層の糖蛋白を分解することにより、角質細胞の剥離に関与している可能性がある。舌粘膜の三種の上皮細胞列において、desmosome 自体の構造上には大きな差異はなく、もっぱら desmosome に付着する Tfib の量とその電子密度に差異が生ずる。

角化過程における desmosome の形態的变化については Rakunerud の詳細な観察にゆずるとして<sup>28)</sup>、desmosome が最も良く発達しているのは深部中間層で、細胞間の interdigitation、それに desmosome に付着する Tfib も著明である。これらの形態学的特徴は、desmosome の細胞間結合装置としてのはたらきとはより、緩衝装置としてもはたらいていることを示している。すなわち、外力および筋組織の機械的運動に対して、上皮細胞が細胞間の interdigitation を利用して細胞の側面を上げ、細胞の変形を容易にさせる一方、desmosome-tonofibril complex によって細胞に弾力性を与え上皮の維持にはたらいているものと思われる。極めて強い弾力性を必要とされる乳頭構成上皮にこれらの形態が著明に認められるのも、このような理由によるものと思われる。

乳頭後面部の desmosome に付着する Tfib は幅広く、電子密度も増している。しかも角質層細胞の desmosome の細胞間接触層は、セメント物質として細胞間にかなり長い範囲に介在している。これは desmosome が細胞の大部分を占める大量の Tfib を付着させるため、あるいは角

質層細胞の結合をより緊密にするための構造と考えられ、角質層細胞の剥離が容易に行われなことが示唆される。

### 4) Tonofilament と Keratohyaline granule について

Tf ならびに KG は、desmosome、keratinosome とならび重層扁平上皮の重要なマーカーで、角質を構成する蛋白の前駆物質と考えられるが、それらの生成機序に関しては、一般的な蛋白合成についての超微形態とは異なる。すなわち、Tf、KG とも膜構造を欠き、細胞外へ分泌される輸出性蛋白でもないので、小胞体-Golgi 系は関与せず、極めて豊富に存在する遊離リボゾームにおいて合成された液状の蛋白が、細胞質内の何らかの要因によって、Tf については線維状に析出し、KG については糖、脂質を伴って液状のまま電子密度を増したのである<sup>29)</sup>。

Tf のもう一つの役割は、前述したように desmosome と共同して cytoskeletal system を構成し、重層扁平上皮の維持、構築にあずかることである<sup>30)</sup>。比較的外力の影響を受け易い乳頭構成上皮に Tf ならびに Tfib が良く発達しているのも、このような理由によるものと思われる。

KG は超微形態的に heterogeneous で、電子密度の差異に基いて種々の KG が認められる。第一の顆粒は、Tfib とは無関係、周囲にリボゾームが付着する高電子密度の小円形顆粒で、glutaraldehyde のみの固定により電子密度が低下する。この顆粒は次に述べる第二、第三の KG の前駆体と考えられ、single granule<sup>5)</sup>あるいは dense homogeneous deposit (DHD)<sup>31)</sup>と呼ばれる。同様の構造ならびに電子密度を有する顆粒が乳頭間上皮の核内にも認められ、オートラジオグラフィー上でも、DHD と同一と考えられる<sup>32)</sup>、KG との関係については不明である。

第二の顆粒は、DHD より大型の円形顆粒で、乳頭間部に多数認められるものである。glutaraldehyde のみの固定では、周辺と内部に低電子密度の明調部と、その間に高電子密度の暗調部が matrix を形成している。光顕上の KG に相当し、composite granule と呼ばれている<sup>5)</sup>。アミノ酸分析によると、cystine は最初 DHD に取り込まれ、その後 composite granule の明調部に移行し<sup>32,33)</sup>、一方、histidine は DHD には乏しいが<sup>34)</sup>、composite granule には豊富に取込まれるという<sup>35)</sup>。これらの所見から、オスミウム酸に親和性を有し、cystine に富む DHD はそれ自体も KG で、composite granule の構成要素となり、composite granule は DHD と暗調部の histidine に富む keratohyalin から成ることが示唆される。

第三には、乳頭前面部に認められ、大小、ときに粗大高電子密度の不整形顆粒で、しばしば融合する。glutaraldehyde のみの固定による所見から、この顆粒も composite granule といえるが、乳頭間上皮のものとは形成過程が異

なる。この場合、それぞれ cystine, histidine に富む物質が, Tfib と無関係に散在したり、また豊富に存在する Tfib に浸潤し、次第に大きくなったものが相互に融合してできたものと思われる。しかし光顕的には好酸性で、Tf の強い影響がうかがわれるが、塩基性アミノ酸である histidine 以外に好酸性の物質が大量に含まれている可能性が高い。

乳頭後面部では典型的な KG が形成されることはない。これは、高電子密度の物質が Tfib に浸潤沈着するが、滴状に沈着するのではなく、diffuse に沈着するためであろう。この線維間物質については、乳頭後面部上皮上層に強い SS 反応が認められ<sup>6)</sup>、cystine の存在が示唆される。

KG に含まれる脂質は、phospholipase により分解されて脂肪酸を生じ、蛋白合成のエネルギー源として消費される一方<sup>36,37)</sup>、KG が角質の線維間物質に移行するに伴い、keratin filament の matrix 形成<sup>38)</sup> にも参加しているのであろう。

#### 5) 細胞膜肥厚について

浅部中間層の上部から次第に細胞膜が肥厚してくるが、そのメカニズムについては良くわかっていない。細胞間隙に放出された keratinosome が細胞膜外葉に添加沈着して細胞膜を外から肥厚させるという考えがある<sup>20)</sup>。確かに細胞膜外葉には、keratinosome 由来の物質の添加、沈着により若干の電子密度帯が形成されるが、肥厚しているのは明らかに細胞膜内葉であり、細胞膜外葉の肥厚説には賛成できない。

Fukuyama らは細胞膜内葉説を主張し、細胞内の高電子密度の小顆粒、すなわち cystine に富む DHD が細胞膜内葉に沈着すると結論している<sup>31)</sup>。一方 Hashimoto<sup>39)</sup>、Tezuka<sup>40)</sup> は、細胞内葉の肥厚説を肯定しながらも、KG の存在しない上皮でも細胞膜の肥厚が生ずるところから、DHD とは異なる高電子密度の小顆粒に由来すると考えている。確かに KG が存在しない乳頭後面部でも細胞膜の肥厚は起っており、KG の関与なしに行われるといえよう。しかし乳頭後面部上皮上層には、cystine の存在が示唆され<sup>6)</sup>、またこのような上皮の角質中の cystine は、filament matrix として存在することが知られており<sup>41)</sup>、DHD とはいわないまでも、細胞質に diffuse に存在し、cystine に富む物質が、一方では Tfib に浸潤し、他方では細胞膜肥厚帯形成に参加するものと思われる。

細胞膜肥厚の役割は、外界からの物理化学的刺激から細胞自体を保護するための措置で、同時に上皮における水分の放出、維持などをコントロールしているものと思われる。

#### 6) Keratin filament と線維間物質について

角質層細胞は基底細胞が成熟分化した最終像で、その大部分はケラチン蛋白から成るが、一般にケラチンとは角質

の線維性蛋白である keratin filament を指し、Tf に由来すると考えられている。

乳頭前面部角質層に認められる KG は、その分解過程の種々相を示しており、角質への移行をみることができ。glutaraldehyde のみの固定で、明調部に filament 構造が認められることは、Tfib が KG 形成に参加してその構成要素となるが、Tfib に浸潤する線維間物質と直接化学的に反応することはなく、粗大 KG の基盤となり、KG 分解消失過程でも keratin filament に分化することを示唆している。

乳頭後面部でも中間層細胞の Tfib が細胞質の大部分を占め、そのまま角質層細胞へ移行する所見が認められる。KG の存在しない表皮では、角質層細胞中の filament の太さは特に増加することはないという<sup>42)</sup>。

Tf が keratin filament に分化するには何らかの化学的に変化する過程を経るはずで、重層扁平上皮の線維性蛋白の化学組成が問題になる。一般にケラチンは、長いアミノ酸結合を示す 3 重の helix 構造の polypeptide で、SS、水素、および塩類により結合し、強い結合を示しているので連鎖ははずれにくく化学的に安定である<sup>43)</sup>。したがって線維性蛋白は強い保護物質として、外界の刺激に抵抗できる。一方、この連鎖は helix 構造をとるので、伸縮自在性はないが、機械的安定度に役立っているものと思われる。生化学的には表皮から種々の蛋白が抽出されており、ケラチンの前駆物質として、 $\alpha$ -fibrous protein<sup>44)</sup>、prekeratin<sup>45)</sup> などが抽出されている。Baden and Bonar は  $\alpha$ -fibrous protein の前駆物質を抽出し<sup>44)</sup>、これが keratin filament へ分化するさい SS 結合を介して crosslink する可能性を示した<sup>44,46)</sup>。さらに最近、この crosslink に働いていると考えられる transglutaminase が角質中より抽出された<sup>47)</sup>。角質層細胞にこのような酵素が存在することは、角質層細胞が生化学的に“生きた”機能を有することを示唆し、非常に興味ある所見である。

乳頭後面部角質層細胞は、keratin filament が緊密に充填し、また SS が非常に豊富なので、機械的強度を増しているであろう。このようなケラチンを硬ケラチンといい、これに対して乳頭間部および乳頭前面部のそれを軟ケラチンという。軟ケラチンで構成される線維が Tf よりやや太くみえるのは、硬ケラチンに比較し、化学組成が若干異なるのか、線維を被覆する脂肪層によるのか<sup>38)</sup>、あるいは電顕標本作製時の人工産物によるのか、良く分らない。

次に線維間物質と KG との関係も重要視されており、線維間物質の大部分は KG に由来するという考えが強い。乳頭間上皮と乳頭前面部とでは、KG の電子密度、染色性はかなり異なっており、線維間物質の形成についてまったく

同一の機序で行われているとは考えにくい。生化学的に角質より抽出された物質が histidine に富むという事実<sup>48)</sup>は、線維間物質が KG の keratohyalin に由来することを示唆するものである。一方、DHD は線維間物質の構成要素かどうかは不明で、むしろ細胞膜内葉の肥厚にあずかり、線維間物質のオスミウム親和性は、cystine 以外にも keratin filament の matrix としての脂肪層<sup>38)</sup>の影響が考えられる。

keratin pattern とは keratin filament と線維間物質とがおりなす角質の網状構造を指し、両者の相対的な電子密度の差によって生じたもので、中間層に比し、線維間物質の電子密度がはるかに高いことに起因する現象と考えられる。この線維間物質は、前述したように KG 由来の高電子密度を有する物質と、filament を被覆する脂肪層の matrix<sup>38)</sup>とが複合したもので、オスミウムに高い親和性を有する。実際、glutaraldehyde のみの固定では、線維間物質の電子密度はほとんど消失し、相対的に高電子密度の keratin filament が浮き彫りされる。このことは、固定および染色条件によって角質細胞の超微形態が変化することを示している。

乳頭後面部の角質層細胞には、緊密に充満する filament と極めて高い電子密度を有する線維間物質が存在するため、keratin pattern はほとんど認められない。乳頭後面部では KG の形成が行われないのであるから、この線維間物質の由来について、他の上皮のように KG に求めることはできない。しかし角質層細胞に移行する直前の中間層細胞は、高電子密度を有する Tfib を充満させ、そのまま角質層細胞に移行する所見を呈するところから、その由来について Tfib に浸潤する高電子密度の物質と考えたい。この物質は KG の前駆物質として止どまったものか、単にリポゾームが凝集してできたものか不明である。乳頭後面部上層に強い SS 反応が認められるから<sup>6)</sup>、cystine に富む物質に由来する可能性が強い。

#### 7) 舌粘膜上皮の角化形態と機能について

口腔粘膜の角化形態には部位的差異があることは多くの人が認めており<sup>49,50)</sup>、舌においても同様で、乳頭が存在する舌背部、舌側縁部では、乳頭前面部と後面部、さらには乳頭間部の角化形態はそれぞれ異なり、重層扁平上皮の角化形態の多様性をみることができる。

このような舌における角化形態の部位的差異が生ずる原因は、舌の伸縮自在の運動と食物の摂取、咀嚼、嚥下といった舌の機能と深い関係があるように思われる。特に糸状乳頭は、食物と接触する機会の多い舌背部、舌側縁に発達し、表面に突出する尖頭を形成することにより、食物を捕えて脱走を防ぎ、食物の咀嚼、嚥下に都合の良い形態を

とっている。乳頭の前後の上皮の角化形式が異なるのもこれら機能に関係するはずである。

乳頭間部は乳頭前面部と同様、最終的に軟ケラチンを産生するが、両者の角化過程はまったく同じとはいえない。乳頭間部では、Tf あるいは Tfib、それに KG の発達程度、ならびに角質層細胞の電子密度などの低下の点で、乳頭前面部より角化の程度は劣る。しかし乳頭間部には、しばしば lamina densa の多層化、細胞外形の不規則性、特に中間層細胞の膜の interdigitation、角質層細胞の不規則な構築などがみられる。このような角化形式は、舌下面、頬<sup>49)</sup>、口腔底、それに軟口蓋<sup>50)</sup>など伸縮性を必要とされる粘膜上皮、比較的 turnover の促進した粘膜上皮に認められる共通の所見である。従って舌背部、舌側縁部の上皮の伸縮運動を担っているのは、乳頭間上皮で、舌側縁は乳頭間上皮の占める割合が大きく、それだけ伸縮運動に富んでいるといえよう。

乳頭前面部は、基底面の half desmosome の大きさ、anchoring fibril と膠原線維の発達程度、中間層における Tfib ならびに desmosome の発達程度、どれをとっても乳頭間部よりまさっている。また KG も豊富で、Tfib を包含する大小種々の不整形、高電子密度の顆粒を多数形成する。したがって角質層細胞は高電子密度で、keratin filament と線維間物質に富み、角化の程度は乳頭間部よりも高い。このような角化形式は硬口蓋粘膜<sup>50)</sup>、皮膚に類似点を見い出すことができる。いずれも外力に対する保護層としての厚い角質層と、外力を緩和させるための装置として豊富な desmosome-tonofibril complex を有している。

一方、乳頭後面部も乳頭前面部と同様、強い弾性を示すべく、desmosome、Tfib が良く発達している。中間層の keratinosome の発達はさほど豊富でないことはさておき、乳頭後面部との根本的な相違は、中間層における KG の産生が行なわれないことと角質層における硬ケラチンの出現である。このような硬ケラチンは爪<sup>39)</sup>、毛<sup>51)</sup>などにも見いだされるが、毛においては keratinosome は発達せず、乳頭後面部の角化形式は爪のそれに良く似ている。硬ケラチンは極めて強靱で剛性に富み、糸状乳頭に作用する外力に対して、後方から乳頭前面部を支える強力な支柱を形成しているものと考えられる。また糸状乳頭が後へ反った尖頭を有するのは、乳頭前面部に比較し、乳頭後面部上皮の turnover が減少するため、角質層細胞の新生と剝離が順調に行われないこと、それに角質層細胞の極端な扁平化など、両者の角質層の質と量の相対的な不均衡によって生じたものであろう。このような形態は食物の嚥下に適しているのは当然である。

## V. 結 語

実験的ハムスター舌癌形成過程を電顕的に観察する手始めとして、正常ハムスター舌側縁上皮の超微構造について角化過程と関連して詳細に検索した。

舌側縁上皮は、舌背部と同様、その大部分を占める乳頭間上皮細胞列、乳頭前面部上皮細胞列、そして乳頭後面部上皮細胞列の三種類の上皮細胞列からなっていた。これらの上皮細胞列における角化形態はそれぞれ異なり、特に keratohyalin granule は heterogeneous で、固定条件および上皮列部位によって構造に差異が生じた。このような舌側縁上皮の超微構造について、一般的な角化過程と詳細に比較検討した。

## 文 献

- 1) Fujita, K., Kaku, T., Sasaki, M. and Onoé, T.: Experimental production of lingual carcinomas in hamsters by local application of 9,10-dimethyl-1,2-benzanthracene. *J. Dent. Res.* **52**, 327-332 (1973).
- 2) 藤田浄秀, 賀来 亨, 佐々木元賢, 小野江為則: 舌癌の実験的形成に関する研究. 第2編 舌癌形成過程の組織学的研究. *口科誌* **22**, 64-75 (1973).
- 3) Lupulescu, A. and Pinkus, H.: Electron microscopic observations on rat epidermis during experimental carcinogenesis. *Oncology* **33**, 24-28 (1976).
- 4) Listgarten, M. A., Albright, J. T. and Goldhaber, P.: Ultrastructural alterations in hamster cheek pouch epithelium in response to a carcinogen. *Arch. Oral Biol.* **8**, 145-165 (1963).
- 5) Jessen, H.: Two types of keratohyalin granules. *J. Ultrast. Res.* **33**, 95-115 (1970).
- 6) 雪野莞爾: ラット舌粘膜上皮の微細構造と角化について. *札幌医誌* **31**, 1-29 (1967).
- 7) 阪尾信義: ラット舌粘膜上皮の分化に関する光学顕微鏡的ならびに電子顕微鏡的研究. *札幌医誌* **36**, 133-158 (1968).
- 8) Swift, J. and Saxton, C.: The ultrastructural location of the periodate-Schiff reactive basement membrane at the dermoepidermal junctions of human scalp and monkey gingiva. *J. Ultrast. Res.* **17**, 23-33 (1967).
- 9) 堀 功: 創傷治癒における再生表皮細胞の基底膜形成に関する電子顕微鏡的研究. *十全医誌* **83**, 379-400 (1974).
- 10) Briggaman, R. A., Dalldorf, F. and Wheeler, C. E.: Formation and origin of basal lamina and anchoring fibrils in adult human skin. *J. Cell Biol.* **51**, 384-395 (1971).
- 11) Briggaman, R. A. and Wheeler, C. E.: The epidermal-dermal junction. *J. Invest. Derm.* **65**, 71-84 (1975).
- 12) Kallman, F., Evans, J. and Wessels, N.: Normal epidermal basal cell behavior in the absence of basement membrane. *J. Cell Biol.* **32**, 231-236 (1967).
- 13) Wilgram, G. F.: Das Keratinosomen: ein Faktor im Verhornungsprozeß der Haut. *Hautarzt* **16**, 377-379 (1965).
- 14) Selby, C. C.: An electron microscope study of thin section on human skin. (2) Superficial cell layers of footpad epidermis. *J. Invest. Derm.* **29**, 131-150 (1957).
- 15) Odland, G. F.: A submicroscopic granular component in human epidermis. *J. Invest. Derm.* **34**, 11-15 (1960).
- 16) Frei, J. V. and Sheldan, H.: A small granular componets of cytoplasm of keratinizing epithelia. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* **11**, 719-724 (1961).
- 17) Suzuki, H. and Kurosumi, K.: Lamellar granules and keratohyalin granules in the epidermal keratinocytes, with special reference to their origin, fate and function. *J. Electron Microscopy* **21**, 285-292 (1972).
- 18) Hashimoto, K.: Cementsome, a new interpretation of the membrane-coating granule. *Arch. Derm. Forsch.* **240**, 349-364 (1971).
- 19) Matoltzy, A. and Parakkal, P. E.: Membrane-coating granules of keratinizing epithelia. *J. Cell Biol.* **24**, 297-307 (1965).
- 20) Bonneville, M. A., Weinstock, M. and Wilgram, A. G.: An electron microscope study of cell adhesion in psoriatic epidermis. *J. Ultrast. Res.* **23**, 15-43 (1968).
- 21) Farbman, A. I.: Electron microscope study of a small cytoplasmic structure in a rat oral epithelium. *J. Cell Biol.* **21**, 491-495 (1964).
- 22) Hayward, A. F. and Hackemann, M.: Electron microscopy of membrane-coating granules and a cell surface coat in keratinized and nonkeratinized human oral epithelium. *J. Ultrast. Res.* **43**, 205-219 (1973).
- 23) Wolff, K. and Holubar, K.: Odland-Körper (Membrane-coating granules, Kerationsomen) als epidermale Lysosomen. Ein elektronenmikroskopisch-cytochemischer Beitrag zum Verhornungspro-

- zeß der Haut. Arch. Klin. Exp. Derm. **231**, 1-19 (1967).
- 24) Gonzalez, L. F., Krawczyk, W. S. and Wilgram, G. F.: Ultrastructural observations on the enzymatic activity of keratinosomes. J. Ultrast. Res. **55**, 203-211 (1976).
  - 25) Itoiz, M. E., Rey, B. M. and Carbrini, R. L.: Thiamine pyrophosphatase and acid phosphatase. Their ultrastructural localization in rat skin. Arch. Derm. Forsch. **252**, 131-137 (1975).
  - 26) Cameron, I. L.: Cell proliferation, migration and specialization in the epithelium of the mouse tongue. J. Exp. Zool. **163**, 271-284 (1966).
  - 27) Kelly, D. E.: Fine structure of desmosomes, hemidesmosomes and an adepidermal globular layer in developing new epidermis. J. Cell Biol. **28**, 51-72 (1966).
  - 28) Raknerud, N.: The ultrastructure of the interfollicular epidermis of the hairless (hr/hr) mouse. III. Desmosomal transformation during keratinization. J. Ultrast. Res. **52**, 32-51 (1975).
  - 29) 黒住一昌: 蛋白合成に関する細胞小器官の超微細構造とその機能—表皮特殊構造に関連して—。臨皮 **23**, 891-903 (1969).
  - 30) Matoltsy, A. G.: Desmosomes, filaments and keratohyalin granules: Their role in the stabilization and keratinization of the epidermis. J. Invest. Derm. **65**, 127-142 (1975).
  - 31) Fukuyama, K., Wier, A. and Epstein, W. L.: Dense homogeneous deposits of keratohyalin granules in newborn rat epidermis. J. Ultrast. Res. **38**, 16-26 (1972).
  - 32) Fukuyama, K. and Epstein, W. L.: A comparative autoradiographic study of keratohyalin granules containing cystine and histidine. J. Ultrast. Res. **51**, 314-325 (1975).
  - 33) Fukuyama, K. and Epstein, W. L.: Heterogeneous proteins in keratohyalin granules studied by quantitative autoradiography. J. Invest. Derm. **65**, 113-117 (1975).
  - 34) Matoltsy, A. G. and Matoltsy, M. N.: The chemical nature of keratohyalin granules of the epidermis. J. Cell Biol. **47**, 593-603 (1970).
  - 35) Fukuyama, K. and Epstein, W. L.: Ultrastructural radioautographic studies of keratohyalin granule formation. J. Invest. Derm. **49**, 595-604 (1967).
  - 36) Long, V. J. W.: Changes in the fatty acid composition of the phospholipids, triglycerides and free fatty acids with depth in the cow snout epidermis. Br. J. Derm. **87**, 227-234 (1972).
  - 37) Long, V. J. W.: Phospholipase A activity in the epidermis. J. Invest. Derm. **58**, 148-154 (1972).
  - 38) Swanbeck, G.: Macromolecular organization of epidermal keratin. An X-ray diffraction study of the horny layer from normal, ichthyotic and psoriatic skin. Acta Derm. Venereol. **39**/Suppl. **43**, 1-37 (1959).
  - 39) Hashimoto, K.: Ultrastructure of the human toenail. II. Keratinization and formation of the marginal band. J. Ultrast. Res. **36**, 391-410 (1971).
  - 40) Tezuka, T.: Thickened cellular envelope of the horny cells in cow snout epidermis. Tohoku J. Exp. Med. **116**, 45-52 (1975).
  - 41) 近土 隆: 羊毛ケラチンの微細構造。臨皮 **27**, 9-14 (1973).
  - 42) Brody, I.: The ultrastructure of the epidermis in psoriasis vulgaris as revealed by electron microscopy. 4. Stratum corneum in parakeratosis without keratohyalin. J. Ultrast. Res. **6**, 354-367 (1962).
  - 43) 清寺 真: 皮膚の生化学。金原出版, 東京 (1966).
  - 44) Baden, H. P. and Bonar, L.: The  $\alpha$ -fibrous proteins of epidermis. J. Invest. Derm. **51**, 478-483 (1968).
  - 45) Matoltsy, A. G.: Prekeratin. Nature **201**, 1131-1132 (1964).
  - 46) Baden, H. P., Gifford, A. M. and Goldsmith, L. A.: The precursor of the  $\alpha$ -fibrous protein of epidermis. J. Invest. Derm. **56**, 446-449 (1971).
  - 47) Buxman, M. M. and Wuepper, K. D.: Keratin cross-linking and epidermal transglutaminase. J. Invest. Derm. **65**, 107-112 (1975).
  - 48) Tezuka, T.: The extraction and partial purification of the deoxycholate soluble matrix protein from human plantar horny layers. Acta Derm. Venereol. **55**, 401-412 (1975).
  - 49) Appleton, J. and Tyldesley, W. R.: Observations on the ultrastructure of the buccal epithelium of the rat. Arch. Oral Biol. **16**, 1071-1088 (1971).
  - 50) Hayward, A. F., Hamilton, A. L. and Hackemann, M. M. A.: Histological and ultrastructural observations on the keratinizing epithelia of the palate of the rat. Arch. Oral Biol. **18**, 1041-1057 (1973).
  - 51) 橋本 謙: 微細構造よりみた毛組織のケラチン化とケラチン。臨皮 **27**, 15-23 (1973).



### Explanation of Figures

Specimens in figures 2-10, 13-15, 17-22, 26-28 were fixed with glutaraldehyde-osmic acid, and specimens in figures 11, 12, 16, 23-25, 29 and 30 were fixed with glutaraldehyde alone, embedded in Epon, and stained with uranyl acetate and lead citrate.

**Fig. 1** Light micrograph of a sagittal section of a lateral portion of normal hamster tongue. I shows the interpapillary epithelial part, A; the epithelial part of the anterior side of the papilla, P; the epithelial part of the posterior side of the papilla. Epon embedded semi-thick section. Glutaraldehyde-osmic acid fixation. Toluidine blue stain.  $\times 60$ .

Figs. 2-16 Electron micrographs of the interpapillary epithelial part.

**Fig. 2** A portion of epithelial-mesenchymal junction. Duplication of lamina densa (Ld), anchoring filaments (Af), anchoring fibrils (Afib), half desmosomes (Des), tonofilament (Tf) and mitochondria (Mi) are observed.  $\times 4,400$ .

**Fig. 3** Abundant ribosomes (Ri) are seen in the cytoplasm in basal cells. Collagen fiber (Cf); lysosome (Ly); desmosome (Des); nucleus (N); nucleolus (Nl); lamina densa (Ld).  $\times 3,300$ .

**Fig. 4** Tonofibrils (Tfib) originate from and terminate at desmosomes (Des), extending across the proximal intermediate cells in many directions. Note the interdigitation of the plasma membrane. Golgi apparatus (Go); mitochondria (Mi).  $\times 16,600$ .

**Fig. 5** A desmosome in the proximal intermediate cell. Three dense lines are seen in the intercellular space. The intermediate line is a intercellular contact layer (Icl). Tonofibrils (Tfib) converge on the inner leaflet (arrow) of the plasma membrane.  $\times 66,000$ .

**Fig. 6** Keratinosomes (Ks) in a proximal intermediate cell. Lamellations within them are seen together with the outer unit membrane. Mitochondria (Mi).  $\times 66,000$ .

**Fig. 7** The same cell as in figure 6. Many keratinosomes (arrows) are seen adjacent to the Golgi apparatus (Go). Mitochondria (Mi); tonofibril (Tfib); lysosome (Ly).  $\times 52,000$ .

**Fig. 8** Keratinosomes in cells in the upper region of the proximal intermediate layer. They are seen in the distal periphery of the cytoplasm. Desmosome (Des).  $\times 32,000$ .

**Fig. 9** Keratohyalin granules (KG) in distal intermediate cells are round and highly electron dense. Intranuclear small dense granule (Idg.)  $\times 10,000$

**Fig. 10** The same cell as in figure 9. Keratohyalin granules (KG) and intranuclear dense granules (arrows) show the same electron density.  $\times 13,800$

**Fig. 11** A cell in the same layer as in figure 9, but fixed with glutaraldehyde alone. The intranuclear dense granule (arrow) shows a low electron density. Keratohyalin granule (KG).  $\times 10,000$ .

**Fig. 12** A high magnification of keratohyalin granules fixed with glutaraldehyde alone. The keratohyalin granule is composed of a peripheral band of low electron dense material, low electron dense bodies and matrix of electron dense material. Surface of the granule is coated with ribosomes.  $\times 21,700$ .

**Fig. 13** Cytoplasm of the horny cell (H) is more electron dense than that of the distal intermediate cell (IM). Keratohyalin granule (KG); ribosome (Ri).  $\times 16,600$ .

**Fig. 14** Remnants of keratinosomes (Ks) in the intercellular space between the intermediate cell (IM) and the horny cell (H). Thickened plasma membrane (arrow) is seen in the horny cell (H).  $\times 32,000$ .

**Fig. 15** Cytoplasm of the horny cell is made up of numerous keratin filaments and inter-filamentous substances. Inner leaflets (arrows) of the plasma membrane consist of thickened electron dense bands. Desmosome (Des).  $\times 32,000$ .

**Fig. 16** Horny cell in the same layer as in figure 15, but fixed with glutaraldehyde alone. Keratin filaments are more dense than in figure 15. The electron dense bands of the thickened plasma membrane are not seen.  $\times 10,000$ .

Figs. 17-25 Electron micrographs of the epithelial part of the anterior side of the papilla.

**Fig. 17** Ribosomes in basal cells are more abundant than in figure 3. Lamina densa (Ld); nucleus (N).  $\times 13,800$ .

**Fig. 18** Half-desmosome (Hd) in a portion of epithelial-mesenchymal junction are often wider than those seen in figure 2.  $\times 22,000$ .

**Fig. 19** Large desmosomes are seen accompanied with electron dense tonofibrils in proxymal intermediate cells.  $\times 16,000$ .

**Fig. 20** Tonofibrils (Tfib) are abundant and closely associated with keratohyalin granules (arrows) in distal intermediate cells. Nucleus (N).  $\times 13,800$ .

**Fig. 21** Keratohyalin granules in the upper region of the proxymal intermediate layer are irregular in shape and show a tendency to fuse with one another.  $\times 5,000$ .

**Fig. 22** Gross and long keratohyalin granules (arrows) are seen in cells in upper layers. Keratohyalin granules are small and less electron dense in upper regions of the horny layer. Horny cell (H); distal intermediate cell (IM).  $\times 20,000$ .

**Fig. 23** Keratohyalin granules (arrows) in the same layer as in figure 22, but fixed with glutaraldehyde alone. Protruding part (Pr) of keratohyalin granule in the intermediate cell (IM) shows a lowered electron density. Horny cell (H).  $\times 13,800$ .

**Fig. 24** The same horny cells (H) as in figure 23 fixed with glutaraldehyde alone. Filaments are seen in low electron dense bodies (arrows) of keratohyalin granule (KG).  $\times 44,000$ .

**Fig. 25** Closely packed dense filaments in upper horny cells (H) as shown in figure 24 fixed with glutaraldehyde alone.  $\times 32,000$ .

Figs. 26-30 Electron micrographs of the epithelial part of the posterior side of the papilla.

**Fig. 26** Note the abundance of ribosomes in proxymal intermediate cells.  $\times 20,000$ .

**Fig. 27** Tonofibrils (Tfib) in cells in upper layers are coalescent and show noticeable high electron density. Distal intermediate cell (IM); horny cell (H); mitochondria (Mi); nucleus (N).  $\times 13,800$ .

**Fig. 28** The same horny cells (H) as in figure 27. Cytoplasm of the horny cell is highly electron dense. Typical keratin pattern is not discernible. Intercellular contact layer (Icl); desmosome (Des); distal intermediate cell (IM); horny cell (H).  $\times 44,000$ .

**Fig. 29** The same cells as in figure 27, but fixed with glutaraldehyde alone. Horny cells (H) show the same electron density as tonofibrils (Tfib) in distal intermediate cells (IM).  $\times 13,800$ .

**Fig. 30** The same horny cells (H) and fixation as in figure 29. Distal intermediate cell (IM); tonofibril (Tfib); desmosome (Des).  $\times 44,000$ .























